

**SVEU ILIŠTE U ZAGREBU**  
**PRIRIODOSLOVNO-MATEMATI KI FAKULTET**  
**BIOLOŠKI ODSJEK**

# Fototrofni biofilmovi i njihova potencijalna primjena

Phototrophic biofilms and their potential application

SEMINARSKI RAD

Irena Žili

Prediplomski studij biologije  
(Undergraduate Study of Biology)

Mentor: prof. dr.sc. Damir Vili i

Zagreb, 2009.

# Sadržaj

<b>1. UVOD .....</b>	<b>3</b>
<b>2. O BIOFILMU .....</b>	<b>4</b>
<b>3. STRUKTURA FOTOTROFNOG BIOFILMA .....</b>	<b>5</b>
3.1. STANIČNI DIO FOTOTROFNIH BIOFILMOVA .....	5
3.2. EPS- IZVANSTANIČNA POLIMERNA TVAR .....	5
<b>4. FOTOTROFNI BIOFILMOVI .....</b>	<b>6</b>
4.1. FORMACIJA (FOTOTROFNOG) BIOFILMA .....	7
4.1.1. <i>Prihvatanje organizma za podlogu</i> .....	8
4.1.2. <i>Komuniciranje putem kvorum sustava i stvaranje male kolonije</i> .....	9
4.1.3. <i>Rast, razvoj i disperzija</i> .....	9
<b>5. FUNKCIONIRANJE I ODRŽAVANJE POSTOJANOSTI ZAJEDNICE .....</b>	<b>10</b>
<b>6. POTENCIJALNA PRIMJENA FOTOTROFNIH BIOFILMOVA .....</b>	<b>12</b>
6.1. PRIMJENA U OTPADNIM VODAMA .....	12
6.2. UKLANJANJE TEŠKIH METALA .....	13
6.3. DEGRADACIJA PETROLEJSKIH PROIZVODA .....	13
6.4. AGROKULTURA .....	14
6.4.1. <i>Fertilizacija</i> .....	14
6.4.2. <i>Slana tla</i> .....	14
6.5. AKVAKULTURA .....	14
6.6. BIOHIDROGEN .....	15
<b>7. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>16</b>
<b>8. LITERATURA .....</b>	<b>17</b>
<b>9. SAŽETAK .....</b>	<b>19</b>
<b>10. SUMMARY .....</b>	<b>20</b>

## 1. Uvod

Godinama su se mikroorganizmi, posebice bakterije, istraživali u laboratorijskim uvjetima i proučavali i opisivali kao solitarni organizmi, a tek je u 20. st. krenulo proučavanje biofilmova kao njihovih također „prirodnih“ staništa. Do danas je postalo jasno da su biofilmovi vrlo raširena forma života mikroorganizama. Nalazimo ih posvuda, od našeg tijela (npr. plak na zubima) do površina u prirodi (obale potoka i mora) i mjesta nastalih antropogenim djelovanjem (npr. kanalizacija). Iz toga je vidljivo odakle dolazi i velik interes za njihovim proučavanjem.

Fototrofni biofilmovi se pojavljuju na površinama koje su u doticaju sa svjetlom ali i vodom. Njihova kompleksnost je povezana sa strukturnom, a time i kemijskom raznolikošću, koje su vidljive kao stratifikacija na različitim razinama.

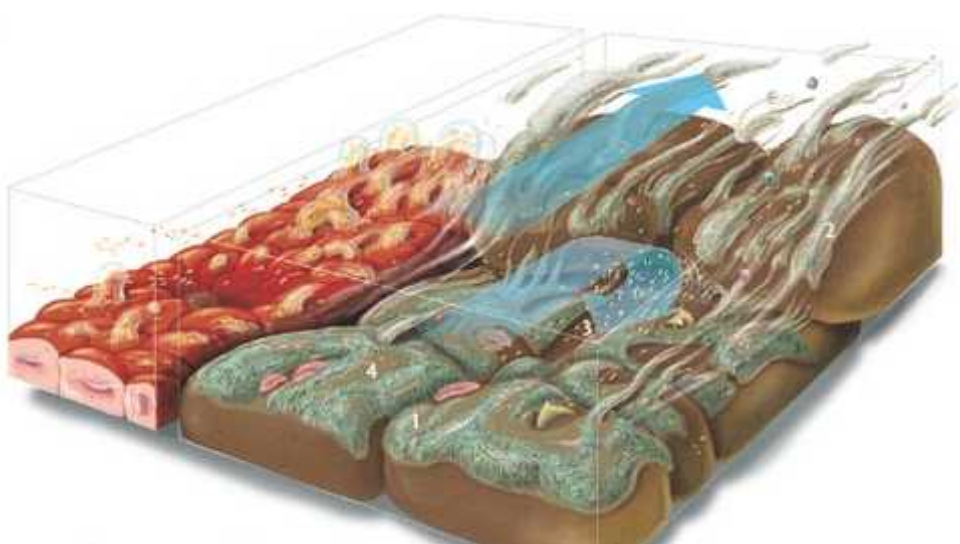
Ovim sam radom htjela objasniti osnovno o ovim zajednicama (nastanak, funkcioniranje i opstanak) ali isto tako i ući u problematiku njihove primjene.

## 2. O biofilmu

Biofilm je kompleksna zajednica organizama u vlastitom polimernom matriksu. Nalazimo ga na podlogama koje su na neki način izložene vodenom okruženju (Slika 1.), a nekad se pojavljuje kao plutajući agregat. Za opstanak biofilma esencijalan je stalan protok kako bi se osigurao kontinuiran dotok nutrijenata.

Iako se pojam biofilma češće odnosi na heterogenu zajednicu, koju moguiniti bakterije, archaea, alge, gljive i protisti, uz određene uvjete, biofilm može tvoriti i jedan tip (vrsta) organizama. Tako da možemo govoriti o strukturno različitim tipovima biofilmova npr. jednovrsnim i viševrsnim mikrobnim, fototrofnim itd.

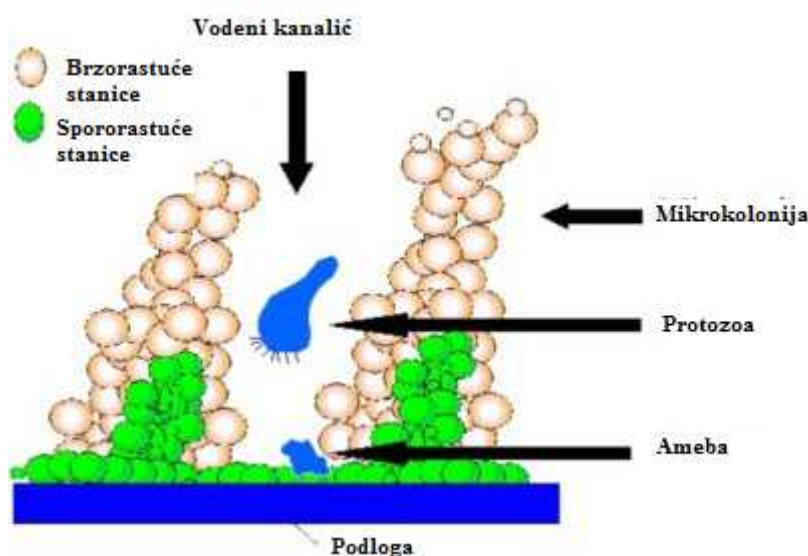
Uz strukturnu i fiziološku heterogenost se nadovezuje i pojava genetske raznolikosti što govori o još većoj kompleksnosti i kemijskoj raznolikosti ovih agregata (Evans i sur. 2005). Osim spomenutih osnovnih razina njihove varijabilnosti, pri opisivanju biofilmova važno je spomenuti svojstva kao što su mehanička stabilnost, difuzija, kretanje tvari unutar biofilma, optička svojstva, itd. Na spomenuta svojstva uglavnom utječu izvanstanične polimerne tvari (EPS -extracellular polymeric substances) iz međustaničnih prostora, koje čine matriks ovakvih agregata.



Slika 1. Prikaz nastanka biofilma na epitelu pluća (lijevo) i na sedimentu u prirodi (desno)  
(preuzeto i prilagođeno iz [http://www.nature.com/nrmicro/journal/v5/n1/fig\\_tab/nrmicro1556\\_F1.html](http://www.nature.com/nrmicro/journal/v5/n1/fig_tab/nrmicro1556_F1.html))

### 3. Struktura fototrofnog biofilma

Kao što je već spomenuto, biofilmove grade stanice povezane EPS-om koji same izluče. Danas se smatra da je matriks organiziran u nakupine mikrokolonija koje, kao i cijav biofilm, funkcioniraju po principu zajednice i tako olakšavaju interakciju među stanicama u polimernom okruženju. U principu je matriks kompaktna struktura, a kod mnogih biofilмова u matriksu su pronađeni kanali (Slika 2.) koji za funkciju imaju olakšavanje izmjene nutrijenata.



Slika 2. Prikaz vodenog kanala među mikrokolonijama u biofilmu  
(preuzeto i prilagođeno iz <http://www.sbs.soton.ac.uk/staff/cwkcvt/images/keevil-biofilm.jpg>)

#### 3.1. Stanišni dio fototrofnih biofilмова

Spomenute stanice u matriksu fototrofnog biofilma možemo podijeliti na heterotrofne (npr. bakterije) i fototrofne jedinice kao što su dijatomeje, cijanobakterije i zelene alge. O njihovom odnosu i funkciji u biofilmu, bit će više riječi kasnije.

#### 3.2. EPS- izvanstani na polimerna tvar

EPS omogućava stanicama zadržavanje njihova položaja i formiranje trodimenzionalnog matriksa u koji su stanice uklopljene (Evans i sur. 2005), a time i stabilnost samog biofilma.

Također ima ulogu i u zaštiti stanica od UV zračenja, naglih promjena pH, dehidracije, antibiotika, itd.

Kemijske veze koje omogućuju formiranje biofilma su, zapravo, slabe interakcije među molekulama EPS-a tj. Londonove sile, elektrostatske interakcije i vodikove veze (Evans i sur. 2005).

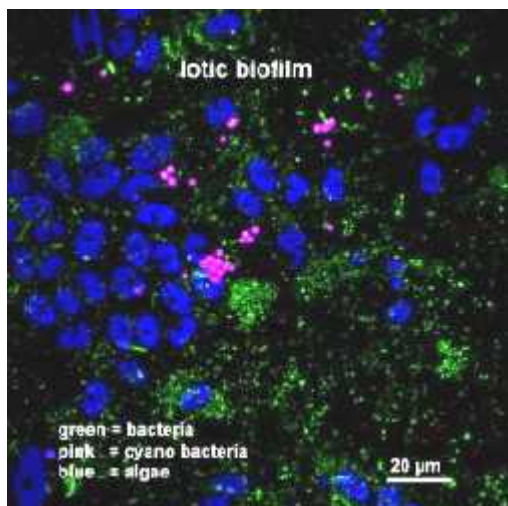
EPS grade uglavnom polisaharidi i proteini. Glavna uloga polisaharida je stabilizacija matriksa, dok je uloga proteina uglavnom enzimatska i odnosi se na razgradnju makromolekula radi njihove lakše apsorpcije u stanicu (Evans i sur. 2005). Matriks također može sadržavati anione (karboksilne, sulfatne i fosforilne skupine) koji zbog stvaranja kemijskog potencijala olakšavaju ulazak metalnih iona (Evans i sur. 2005).

## 4. Fototrofni biofilmovi

Fototrofni biofilmovi su zajednice organizama koje nalazimo na površinama izloženim svjetlu, u okviru kopnenih i akvatičkih područja. Ovakve agregatne zajednice fototrofa i heterotrofa iji su metabolizmi jako povezani (Slika 3.). Naime, povezivanjem u ovako organizirane forme, ovi organizmi sebi stvaraju zaštićen okoliš i veću dostupnost nutrijenata, a time i veću šansu za preživljavanjem. Iako se godinama mislilo, pogotovo za bakterije da preferiraju solitarni i planktonski način života, istraživanjem biofilмова se dokazalo suprotno. Fototrofni biofilmovi nastaju na osvijetljenim površinama koje su u povremenom ili stalnom kontaktu s vlagom (vodom). Najčešće ih nalazimo u moru (Slika 4.), u potocima na kamenju i uz obalu, u zagađenim vodama, na tlu uz morevarna područja, na brodovima, itd.

Fototrofne jedinice osiguravaju zajednici kisik i organske spojeve proizvedene fotosintetskim putevima. Heterotrofi apsorbiraju te iste tvari i omogućuju njihovu regeneraciju.

Unutar agregata se javljaju logična slojevitost i raspodjela organizama. Površinske slojeve s najviše svjetla i kisika naseljavaju aerobni fototrofi (cijanobakterije i dijatomeje), a nešto dublje slojeve anaerobni fototrofi (zelene i purpurne sumporne bakterije). U najnižim slojevima, bez svjetla, nalaze se heterotrofni kemotrofi. Ovakvu stratifikaciju dodatno povećavaju vertikalni kemijski gradijent i pH gradijent, nastao zbog iskorištavanja CO<sub>2</sub>.



Slika 3. Prikaz fototrofnog biofilma pomoću LSM-a  
(preuzeto i prilagođeno iz  
<http://phobia.itqb.unl.pt/grfx/biofilm-image014.jpg>)



Slika 4. Fototrofni biofilm izgrađen uglavnom od cijanobakterija, donji slojevi su razgrađene mikrokolonije  
(preuzeto i prilagođeno iz  
<http://nai.nasa.gov/team/customtags/projectreports.cfm?teamID=49&year=9&projectID=1977>)

#### 4.1. Formacija (fototrofnog) biofilma

Mikroorganizmi uslijed interakcija s drugim stanicama prelaze iz solitarnog planktonskog na ina života u život u zajednici. Faktori koji najviše utječu na formiranje biofilma su hidrodinamika, nutrijenti, detekcija (prepoznavanje) kvorumom (QC- quorum sensing je način komunikacije stanica kojim, očitavanjem broja signalnih molekula u okolini, stanica može otkriti koliko se drugih stanica nalazi oko nje), brzina toka i kompeticija.

O tome kakav će sastav organizama biofilm imati ovisi o okolišnim uvjetima kao što su tip vode (slatka ili slana), mikroklimatski uvjeti (cijanobakterije podnose toplija i suša staništa za razliku od dijatomeja) pa čak i tip podloge (različite vrste dijatomeja, „preferiraju“ različite boje i premaze na brodovima).

Stvaranje biofilma posljedica je okolišnih i unutarstaničnih signala. Veliku ulogu u njegovoj formaciji ima spomenuti kvorum sustav koji omogućuje kontinuiranu izmjenu informacija između stanica.

Nastajanje biofilma možemo podijeliti na nekoliko koraka (Slika 5.):

A) Prihvatanje organizma za podlogu

B) Komuniciranje putem kvorum sustava i stvaranje male kolonije

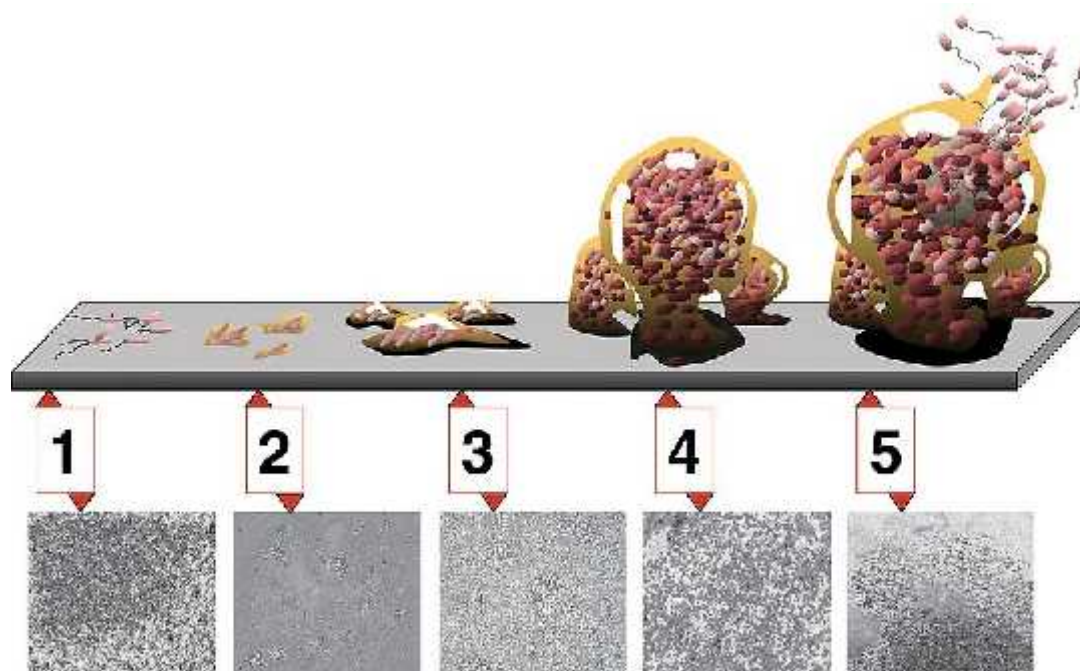
C) Rast, razvoj i disperzija

#### 4.1.1. Prihvaćanje organizma za podlogu

Chlorophyta i cijanobakterije, koji predstavljaju fototrofe u ovakvim zajednicama nalazimo kao epifite na drveću, kamenju, tlu, ali isto tako i na brodovima i drugim površinama.

Fototrofni biofilm može nastati prihvaćanjem heterotrofa na površine s fototrofima ali isto tako i vezanjem fototrofa na agregate heterotrofnih organizama (bakterije, protisti)

Za prihvaćanje bakterije na neku površinu odgovorne su dvije sile. Prva je Van der Waalsova sila koja ima tendenciju privlačiti stanice prema površinama, dok su udaljene nekoliko desetina mm. Druga se javlja kao posljedica negativnog naboja stanica i mnogih površina, a djeluje na udaljenostima od 10- 20 nm. Vjerojatnost prihvaćanja stanice za podlogu se uvelike povećava kod stanica sa pilima i flagelama. Također, u području hidrodinamičke granice tj. u slojevima tekućine koji su u blizini supstrata brzina protoka je smanjena. To je uzrokovano privlačnim silama i silom trenja, a zbog sniženih turbulencija idealno je za prihvaćanje stanice za podlogu. Sam proces prihvaćanja se sastoji od dva dijela, reverzibilnog i ireverzibilnog prihvaćanja na podlogu.



Slika 5. Razvoj biofilma kroz 5 koraka. (1)prihvaćanje za podlogu, (2) ireverzibilno vezanje- izlučivanje EPS-a i formiranje mikrokolonija (3) rast mikrokolonija (4)razvoj biofilma (5) disperzija (slika preuzeta i prilagođena iz <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Biofilm.jpg>)



Reverzibilno uvršćivanje ponekad može izgledati kao vrtnja, vibriranje ili kretanje uz podlogu. Vrtnja je znak prihvatanja stanice za podlogu putem flagele, vibriranje je posljedica naleta vode na slabo privrnutu stanicu (Browniano kretanje), a kretanje uz podlogu je znak kontrakcije pila kojima se stanica prihvatila za supstrat.

S rastom populacije, dolazi do formiranja mikrokolonija tj. stanice se primiraju jedna drugoj, a cijela zajednica poprima oblik tornja ili gljive. Kad kolonija dosegne određenu veličinu, počinje produkcija EPS-a, a time i ireverzibilno uvršćivanje za podlogu.

#### 4.1.2. Komuniciranje putem kvorum sustava i stvaranje male kolonije

Ireverzibilno uvršćivanje karakterizira i detekcija kvoruma tj. detekcija točno određenog broja molekula. Ovaj fenomen omogućuju autoindikatori, signalne molekule koje služe kao indikatori stanice gustoće. Kada koncentracija autoindikatora u EPS-u dostigne dovoljnu koncentraciju, bakterijske stanice mogu prepoznavanjem tih signalnih molekula odrediti brojnost stanica u svojoj okolini. Ovakvim komunikacijskim sustavom bakterije mogu međusobno koordinirati svoje ponašanje i tako funkcionirati kao zajednica. Iako svaka vrsta ima svoje signalne molekule, dokazano je da komunikacija putem kvoruma je moguća i među različitim vrstama (quorum sensing cross talk).

Nakon formacije stabilne kolonije, započinje povećanje diverziteta kolonije, prihvatanjem drugih vrsta organizama za njenu površinu, a odabir organizama može biti nasumičan ili ciljani.

Kolonija nastavlja svoj rast i povećava raznolikost, povećanjem broja organizama, a veličina kolonije ovisi o broju vrsta organizama i pojedinih jedinki, što je uvjetovano i protokom nutrijenata.

#### 4.1.3. Rast, razvoj i disperzija

Posljednji korak u razvoju kolonije je njezina disperzija, koja može biti slučajna (otkidanje komada kolonije djelovanjem vanjskih faktora) ili namjerna (iz kolonije izlaze jedinke koje nastavljaju s planktonskim načinom života dok se opet ne privrstite za podlogu).

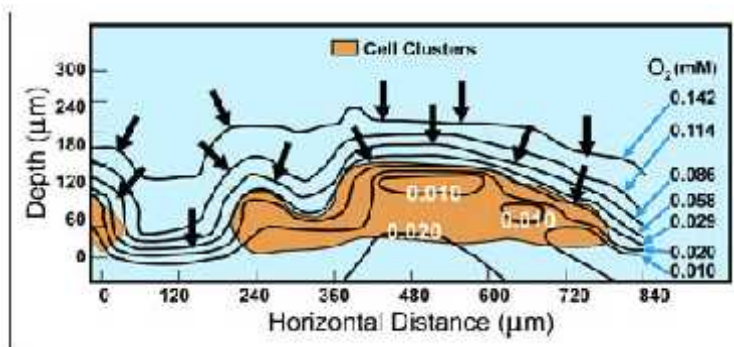
## 5. Funkcioniranje i održavanje postojanosti zajednice

Kako je ranije spomenuto, fototrofni biofilmovi su kompleksne zajednice organizama. Za razliku od mikrobnih biofilmova, ovdje često govorimo o vrstama heterogenim zajednicama. Najjednostavnije opisan na in funkcioniranja fototrofnog biofilma je kroz tri koraka. Prvi korak omogućuje fotorofi (aerobni i anaerobni) i on uključuje iskorištavanje svjetlosne energije i redukciju uglji nog dioksida u svrhu dobivanja organskih tvari. U drugi korak su uključeni heterotrofi, koji dobivene produkte iskorištavaju za povećanje svoje biomase i tako ih recikliraju. Posljednja karika ovog lanca je produkcija polimera koji sa injavaju matriks i povećanje biofilma. Ako pogledamo malo dublje od ove pojednostavljene sheme, možemo zaključiti da su metabolizmi ovih organizama puno više isprepleteni nego što se to čini na prvi pogled, a njihova koegzistencija ne smije biti upitna. Ovakav raspored i odnos organizama dovodi do stratifikacije, koja se, kao što je spomenuto ranije, javlja na razini organizama ali isto tako i na kemijskoj razini. Unutar zajednice možemo uočiti razliku u koncentraciji kisika, organskih molekula i u pH. Prije pojašnjavanja same unutrašnjosti agregata, najprije je bitno spomenuti uvjete na površini samog biofilma.

Iznad biofilma postoje dva područja tj. granice u kojima su uvjeti drugačiji nego u ostatku medija. To su hidrodinamički pojas i pojas difuzije (Evans i sur. 2005), koje je postojanje posljedica viskoznosti vode i difuznosti biofilma. U glavnom toku, izvan ova dva pojasa, brzina protoka je visoka, a kisik je jednoliko raspoređen. U blizini površine biofilma, unutar hidrodinamičkog sloja, a još više u sloju difuzije, smanjuje se brzina protoka, a stopa transporta kisika je povećana (Evans i sur. 2005).

Kisik je također nejednoliko raspoređen i unutar biofilma (Slika 6.). Površinski slojevi su bogatiji kisikom od centralnih dijelova matriksa, gdje zbog metaboličke aktivnosti vladaju djelomično ili potpuno anoksični uvjeti. Ponekad je u najdonjim slojevima biofilma koncentracija kisika veća nego u centralnim dijelovima. To je posljedica postojanja sustava kanala kroz biofilm, kojima se kisik doprema do donjih slojeva. Uz kisik, prema nižim slojevima se kreću i nutrijenti potrebni heterotrofima.

Interakcija među bakterijskim stanicama osigurana je kvorum sustavom, međutim što se događa između algi i bakterija? Molekule koje su u EPS mogu imati nikakav utjecaj na druge stanice ali isto tako mogu služiti kao izvor ugljika, dušika ili nekog drugog elementa.



Slika 6. Disperzija kisika u biofilmu

(slika preuzeta i prilagođena iz [http://www.biofilmbook.hypertextbookshop.com/public\\_version/contents/chapters/chapter006/section003/blue/page001.html](http://www.biofilmbook.hypertextbookshop.com/public_version/contents/chapters/chapter006/section003/blue/page001.html))

Također mogu služiti i kao signalne molekule, kao npr. cAMP (Melo i sur. 1992). Alge i bakterije, koliko je za sad poznato, održavaju interakciju najviše pomoću molekula kao što su npr. šećeri i aminokiseline (Melo i sur. 1992.). Kako su dokazali Haack and McFeters (1982), s povećanjem broja stanica algi, broj stanica bakterija se smanjuje i obratno.

Jedan od načina održavanja zajednice i povećanja njezine rezistencije na potencijalno štetne tvari je lateralni prijenos gena. Ovaj proces uključuje horizontalni transport genetskog materijala i time promjene u ekspresiji već u istoj generaciji. Odnosno, umjesto da čekaju diobu i prijenos gena na sljedeće generacije, bakterijske stanice mogu lateralnim prijenosom dati susjednim stanicama gene koji im omogućuju rezistenciju i time „poboljšati“ svojstva postojeće populacije. Lateralni transport gena uključuje tri mehanizma: transdukciju, transformaciju i konjugaciju. Od spomenutih procesa jedino konjugacija uključuje ciljano izmjenu gena između stanica i to putem plazmida (cirkularna samoreplicirajuća molekula DNA).

Na postojanost zajednice utječe i difuzija. Naime, s povećanjem dubine biofilma povećava se i vrijeme difuzije nutrijenata ali isto tako i potencijalno štetnih tvari za biofilm. U dubljim slojevima je difuzija smanjena zbog postojanja većeg broja stanica ali isto tako i zbog EPS-a, ovisno o gustoći i svojstvima te ovisi i brzina difuzije.

## 6. Potencijalna primjena fototrofnih biofilmova

### 6.1. Primjena u otpadnim vodama

Otpadne vode se danas mogu tretirati na desetke različitih načina, ovisno njihovoj daljnjoj upotrebi. Mnoge od tih metoda uključuju primjenu bakterija ili algi. Međutim, ovi se organizmi u različitim metodama koriste zasebno, a upotreba biofilmova kao zajednica ovakvih organizama pokazuje velike prednosti.

U fototrofnim biofilmovima kisik koji proizvode fototrofi može pokriti velik dio kisika potrebnog za bakterijsku nitrifikaciju i heterotrofne konzumacije organskog ugljika. K tome, fototrofi troše nutrijente za povećanje biomase sa ugljikovim dioksidom kao izvorom ugljika, a što je najbitnije, dušikovi spojevi ostaju kao dio biomase algi. Kod tretmana otpadnih voda bakterijskom nitrifikacijom i denitrifikacijom velik dio dušika završi u atmosferi (Roeslers, i sur. 2007).

Cijanobakterije mogu asimilirati dušik u obliku amonijaka, nitrita, nitrata, uree i aminokiselina, a najveća prednost metode pročišćavanja voda nad, do sad već korištenom, metodom suspendiranih algi je što nema dodatnih troškova vezanih uz uklanjanje biomase algi. Još jedna korist od cijanobakterija je ta da mogu akumulirati anorganski fosfor u obliku polifosfata. Međutim ta metoda pročišćavanja nije dovoljno istražena (Roeslers i sur. 2007). Zbog fotosintetske aktivnosti u fototrofnim biofilmovima dolazi do povećanja pH vrijednosti, što dovodi i do precipitacije fosfata. Dio fosfata se potroši i na asimilaciju. A zbog porasta pH se također javlja i manji broj koliformnih bakterija.

Jedan od načina uklanjanja nutrijenata iz manje zagađenih otpadnih voda je pomoću umjetnih močvara, gdje bitnu ulogu imaju i epifitski fototrofni filmovi sa stabljika trske.

Za optimizaciju i efikasnost ovakvih sustava, važno je definirati optimalne uvjete. Craggs (1996) je definirao nekoliko parametara. Jedan od njih je brzina protoka koja istovremeno utječe na kolonizaciju ali i na dostupnost nutrijenata i brzinu metabolizma kod već formiranih biofilmova. Dakle, možemo zaključiti da brzina protoka može imati dvojake učinke.

Druga dva bitna parametra, koja su međusobno isprepletena, jesu dubina vode i intenzitet svjetla. S povećanjem dubine, smanjuje se stopa primarne proizvodnje kod algi ali opet, u

plima s velikim intenzitetom svjetlosti i malim protokom, do biofilma ne dolazi dovoljno nutrijenata.

## 6.2. Uklanjanje teških metala

Iako su neki metali esencijalni za normalno funkcioniranje ljudskog organizma, njihova velika koncentracija može biti jako štetna. Pod teške metale ubrajamo sve one kojima je gustoća veća od 5 g/cm<sup>3</sup>, a koncentracije u kojima su štetni variraju za pojedine metale. Danas se teški metali koriste u industriji papira, gnojiva, petrokemijskoj industriji, itd.

U ovaj proces je uključen aktivni i nekoliko pasivnih mehanizama kao npr. izmjena iona, helacija, adsorpcija, difuzija (kroz staničnu stijenku). Aktivni mehanizam njihova uklanjanja je bioakumulacija, koja ovisi o metabolizmu stanice (Roeslers i sur. 2007). Kako je pokazano istraživanjima, stanice algi to mogu činiti na nekoliko načina. (Bender i sur. 1994, Mehta 2005).

Uklanjanje teških metala kod fototrofnih biofilmova omogućuje EPS, koji pri povišenom pH (povećuje ga fotosintetska aktivnost biofilma) ima veću afinitet za metale (Bender i sur. 1994; Bhashar i Bhosle 2006; Liu i sur. 2001). Na afinitet biofilma prema teškim metalima također utječe i intenzitet svjetlosti, gustoća biofilma i tolerantnost same stanice prema određenom metalu. Nažalost ova metoda nije još u potpunosti izvediva zbog postojanja problema uklanjanja teških metala iz same biomase.

Interesantno je da afinitet biofilma prema teškim metalima smanjuje tvrda voda, tj. voda bogata kalcijevim i magnezijevim ionima. Do toga dolazi zato jer su spomenuti ioni u kompeticiji s ionicima teških metala (Roeslers i sur. 2007).

## 6.3. Degradacija petrolejskih proizvoda

Ovo svojstvo fototrofnih biofilmova je potencijalno primjenjivo pri sprječavanju ekoloških katastrofa uzrokovanih prolijevanjem proizvoda s petrolejskom bazom, a omogućuju ga sulfat reducirajuće bakterije (Edwards i sur. 1992.) i aerobni heterotrofi (Benthien i sur. 2004; Cohen 2002; Sorkhoh i sur. 1995). Smatra se da se cijanobakterijskom fiksacijom dušika dobiva

dovoljno dušika, a time se poboljšava i asimilacija ugljika tj. degradacija spomenutih spojeva.

Prema Nicodemu i sur. (1997), slobodni bi radikali, koji nastaju fotosintezom, mogli indirektno poboljšavati ovaj proces.

## 6.4. Agrokultura

Upotreba biofilmova, posebno mikrobnih biofilmova, je u agronomiji odavno poznata i primjenjiva i to ponajviše u svrhu obogaćivanja tla. Za fototrofne filmove je agrokultura i dalje područje potencijalne primjene.

### 6.4.1. Fertilizacija

U agrokulturi se može koristiti dušik nastao pri razgradnjom vode fototrofnim biofilmovima koji ostane pohranjen u biomasi. Međutim takva biomasa se ne bi mogla upotrebljavati kao direktan fertilizator jer bi mogla sadržavati i mnoge štetne tvari kao što su npr. teški metali. Prednost ove metode je što EPS povećava kapacitet tla za zadržavanjem vode i isto tako smanjuje eroziju tla (Barclay i Lewin 1985; Rao i Burns 1990).

### 6.4.2. Slana tla

Jedan od većih agrokulturalnih problema je povišenje slanosti tla. Dokazano je da seinokulacijom cijanobakterija otpornih na slaniji okoliš, može privremeno smanjiti slanost tla (Apte i Thomas 1997; Kaushik i Venkataraman 1982.) jer truljenjem i smrću cijanobakterija, apsorbirani ioni natrija vraćaju se nazad u tlo.

## 6.5. Akvakultura

Količina nutrijenata u vodi je bitna za akvakulturu. Jedan od načina primjene fototrofnih biofilmova je uklanjanje amonijaka i nitrata iz vode (Bender i Phillips 2004). Također

postoji velik interes u zamjeni klasične hrane sa biofilmovima, time bi se mogla postići i ušteda jer je na ovakvim uzgajalištima mala stopa iskorištenja unesenih nutrijenata iz hrane (Teshima 1991, Naylor i sur. 2000, Phillips i sur. 1994). Zamjenom klasične hrane s biofilmovima moglo bi se izbjeći „propadanje“ neiskorištenih nutrijenata i olakšati njihovo uklanjanje (Roeslers i sur. 2007).

## 6.6. Biohidrogen

Vodik se koristi kao gorivo za pokretanje space shuttle-ova i rjeđe kao izvor rezervne energije u bolnicama i dr. ustanovama. Također je sve češća njegova upotreba u prijevoznim sredstvima. Takav način iskorištenja vodika je omogućen izgradnjom fuel cells tj. ćelija sa gorivom. Pozitivna strana korištenja vodika kao izvora energije, jest da kao produkt njegova izgaranja nastaje samo voda koja se može dalje iskorištavati.

Neka su istraživanja s bioreaktorima pokazala da su cijanobakterije sposobne proizvoditi vodik (Roeslers i sur. 2007). Naravno, za masivnu proizvodnju ovog plina neophodne su i velike količine stacionirane biomase.

Cijanobakterije mogu proizvoditi vodik kroz dva metabolička puta tj. putem djelovanja dva enzima. Dvosmjerni kompleks hidrogenaze koja može producirati ili oksidirati vodik (Roeslers i sur. 2007) još nije dovoljno istažen. Međutim, djelovanje nitrogenaze je poprilično istraženo i poznato. Nedostatak ovog enzima je velik gubitak ATP, iako se njegovom hidrolizom potiče i nastajanje vodika.

Kako je ovakav način proizvodnje vodika i dalje samo u obliku ideje, teško je govoriti o opsegu njegove ekonomske iskoristivosti.

## 7. Zaključak

U ovom radu spomenuta su osnovna svojstva biofilmova, način njihova funkcioniranja kao zajednice i mogućnosti njihove potencijalne primjene. Nažalost, unatoč velikom interesu za biofilme, do danas su bakterijski biofilmovi puno više istraživani od fototrofnih. To je vidljivo po tome što unatoč velikom potencijalu ovih fototrofnih zajednica, zbog manjih interesa, u njihova istraživanja se ne ulaže dovoljno sredstava. Interes za njihovom primjenom dobiva još više na važnosti kad pogledamo mogućnosti njihove varijabilnosti. Osim što se ovdje javljaju različiti tipovi organizama (eukarioti i prokarioti), također su moguća i variranja unutar vrsta, što može dovesti do njihove još veće primjene.

Jedan od mogućih problema razvoja fototrofnih biofilmova je da, s obzirom da se radi o svjetlu ovisnim zajednicama, oni zahtijevaju velike površine s direktnim dotokom svjetla, što sa sobom donosi pitanje financiranja i smještaja ovakvih „uzgajališta“. Međutim, kako se njihovom upotrebom može i dosta uštediti (spomenute metode pročišćavanja vode), financijski gledano, njihova primjena ne bi trebala biti problem ako se smjeste na prostorima s jeftinijim zemljištima (Roeslers i sur. 2007).



## 8. Literatura

- Apte S.K., Thomas J., 1997. Possible melioration of coastal soil salinity using halotolerant nitrogen- fixing cyanobacteria, *Plant soil* 189, 205-211
- Barclay W.R., Lewin R.A. 1985. Microalgal polysaccharide production for the conditioning of agrocltural soils, *Plant Soil* 88,. 159-169
- Bender J., Phillips P., 2004. Microbial mats for multiple application in aquaculture and bioremediation., *Bioresource Technology* 94, 229-238
- Bender J., Rodriguez-Eaton S., Ekanemesang U.M., Phillips P., 1994. Characherization of metal-binding bioflocclulants produced by the cyanobakterial component of mixed microbial mats, *Applied And Environmental Microbiology* 60, 2311-2315
- Benthien M., Wieland A., Garcia de Oteyza T., Grimalt J.O., Kuhl M., 2004. Oil-contamination effects on a hypersaline microbial mats community (Camargue, France) as studied with microsensors and geochemical analysis, *Ophelia* 58, 135-150
- Bhaskar P.V., Bhosle N.B., 2006 Bacterial extracellular polymeric supstance (EPS): a carrier of a heavily metals ina marine food- chain, *Environment International* 32, 191-198.
- Cohen J, 2002. Biremediation of oil by marine microbial mats, *International Microbiology* 5, 189-193.
- Craggs R.J., Adey W.H., Jessup B.K., Oswald W.J., 1996. A contolled stream mesocosm for tertiary treatment of sewage, *Ecological Engineering*. 6, 149-169
- Edwards E.A., Willis. L.E., Reinhard M., Grbic- Galic D., 1992. Anaerobic degradation of toulen and xylen by aquifer microorganisms under the sulfate- reducing conditions, *Applied And Environmental Microbiology* 58, 794-800
- Elsayed A.F.M., Teshima S.I., 1991. Tilapia nutrition in aquaculture, *Rev Aquat Sci* 5; 247-265.
- Evans L. V., 2005. Biofilms: Recent Advances in their Study and Control, U: Structure and function of biofilms, Ed: Lewandowski Z., Taylor & Francis, 2-8
- Evans L. V., 2005. Biofilms: Recent Advances in their Study and Control, U: Physico-chemical properties of biofilm, Ed: H.- C. Flemming, J. Wingender, T. Griebber, C. Mayer, Taylor & Francis, 21-28
- Fixation, Deparment of Atomic Energy, Bombay, 378-389

- Haack, T.K., and McFleters G.A., 1982. Nutritional relationships among microorganisms in an epilithic biofilm community, *Microbial Ecology* 8, 115-126
- Kaushik B.D., Venkataraman G.S., 1982. Reclamative capacity of blue- green algae in saline and sodic soils. In: *Proceedings of National Symposium on Biological Nitrogen* .
- Liu Y., Lam M.C., Fang H.H.,2001. Adsorption of heavy metals by EPS of activated sludge, *Water Science And Technology* 43, 59-66
- Melo L. F. , Bott T.R. , Fletcher M. i Capdeville B.,1992. *Biofilms- Science and technology, U:Bacterial and algal interactions in biofilms*, Ed: K. E. Cooksey, Springer-Verlag New York, 166
- Naylor R.L., Goldburg R.J., Primavera J.H. i sur, 2000. Effects of aquaculture on world fish supplies, *Nature* 405, 1017-1024
- Nicodem D.E., Fernandes M.C.Z., Guedes C.L.B., Correa R.J., 1997. Photochemical processes and the enviromental effect of petroleum spills, *Biogeochemisty* 39, 121-138
- Phillips P, Russel A., Bender J, Munoz R., 1994. Management plan for utilization of a floating microbial mat with its associatet detrital gelatinous layer as a complete tilapia *Oreochromis niloticus* feed system, *Bioresource Technology* 47; 239-245
- Rao D.L.N., Burns R.G., 1990. The effect of surface growth of blue-green algae and bryophytes on some microbiological, biochemical and physical soil properties, *Biology And Fertility of Soils* 9, 239-244
- Roeslers G. , M. van Loosdrecht M. C. and Muyzer G. , Phototrophic biofilms and their potential application, *Journal of Applied Phycology* 20, 227- 235
- Sorkhoh N.A., al-Hasan R.H., Khanafer M., Radwan S.S., 1995. Establishment of oil-degrading bacteria associated with cyanobacteria in oil-polluted soil, *Journal Of Applied Bacteriology* 78; 194-199.
- <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Biofilm.jpg>
- <http://nai.nasa.gov/team/customtags/projectreports.cfm?teamID=49&year=9&projectID=1977>
- <http://phobia.itqb.unl.pt/grfx/biofilm-image014.jpg>
- [http://www.biofilmbook.hypertextbookshop.com/public\\_version/contents/chapters/chapter006/section003/blue/page001.html](http://www.biofilmbook.hypertextbookshop.com/public_version/contents/chapters/chapter006/section003/blue/page001.html)
- [http://www.nature.com/nrmicro/journal/v5/n1/fig\\_tab/nrmicro1556\\_F1.html](http://www.nature.com/nrmicro/journal/v5/n1/fig_tab/nrmicro1556_F1.html)
- <http://www.nottingham.ac.uk/quorum/index.htm>
- <http://www.sbs.soton.ac.uk/staff/cwkcvc/images/keevil-biofilm.jpg>

## 9. Sažetak

Biofilm je kompleksna zajednica organizama u vlastitom polimernom matriksu. Nalazimo ga na podlogama koje su na neki način izložene vodenom okruženju, a nekad se pojavljuje kao plutajuć i agregat. Biofilmovi su strukturno i fiziološki vrlo raznoliki, stoga možemo govoriti o različitim tipovima biofilmova.

Fototrofni biofilmovi su specifični po tome što su ovisni o svjetlu. Njihova stratifikacija se javlja na razini vrsta organizama ali isto tako i kao kemijska stratifikacija.

Zbog svoje strukturne raznolikosti (raznolikosti organizama) potencijalno su vrlo pogodni za proizvodnju vodika, akumulaciju štetnih tvari, a time i primjenjivi u mnogim granama industrije. Cilj ovog rada bio je opisati fototrofne filmove, objasniti proces njihova nastajanja i povezati njihovu strukturu sa njihovom primjenom

## 10. Summary

Biofilm is a complex community of organisms in their own polymer matrix. It is found on surfaces that are exposed to the aquatic environment, and sometimes appears as a floating unit. Biofilms are structurally and physiologically very diverse, therefore we can talk about different types of biofilms. Phototrophic biofilms are specific because they depend on the light. Their stratification occurs at the level of organisms, but also as chemical stratification. Because of their structural diversity (diversity of organisms) they are potentially very suitable for hydrogen production, accumulation of harmful substances, and therefore, applicable in many branches of industry. The aim of this work was to describe phototrophic biofilms, explain the process of their emergence and link their structure with application.